

● مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دوره شانزدهم، شماره ۱، ص ۸۶-۷۹، ۱۳۸۷

مقاله پژوهشی

شناسایی مواد تشکیل دهنده و بررسی اثرات آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی گیاه کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam) در مرحله قبل از گلدهی

دکتر حمزه امیری^۱

خلاصه

مقدمه: کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) گیاهی است متعلق به تیره نعناع که بخش های هوایی آن به عنوان ادویه و در طب سنتی در درمان سرماخوردگی و سرفه به کار می رود. روش: اسانس به دست آمده از بخش های هوایی این گیاه توسط روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه GC و GC/MS مورد آنالیز قرار گرفت. عصاره های متانولی بخش های هوایی گیاه نیز با روش Lin و همکاران تهیه شد. فعالیت آنتی اکسیدانی احتمالی اسانس و عصاره متانولی گیاه با استفاده از ۲ و ۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و بتاکاروتن- لینولئیک اسید مورد بررسی قرار گرفت. یافته ها: در مجموع ۲۳ ترکیب که ۹۸/۶٪ از کل اسانس را شامل می شدند مورد شناسایی قرار گرفتند. ترکیبات اصلی آن به ترتیب شامل پولگون (۳۰/۱٪)، تیمول (۲۱/۳٪)، پارامنتا-۳-ان-۸-ال (۱۲/۹٪)، پیریتنون (۹/۳٪)، و ۱ و ۸- سینئول (۴/۱٪) بود. در سیستم DPPH میزان IC_{50} برای فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های متانولی ۲۱/۴ $\mu\text{g/ml}$ بود در حالی که میزان IC_{50} برای اسانس ۵۵/۳ $\mu\text{g/ml}$ به دست آمد. در روش بتاکاروتن- لینولئیک اسید فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی و اسانس به ترتیب ۸۹/۳٪ و ۶۱/۶٪ می باشد. نتیجه گیری: این مطالعه ضمن شناسایی مواد تشکیل دهنده گیاه فوق نشان داد که به طور کلی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی در مقایسه با اسانس بیشتر است. واژه های کلیدی: *Ziziphora clinopodioides* اسانس، فعالیت آنتی اکسیدانی، عصاره متانولی

۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه لرستان • آدرس پست الکترونیک: amiri_h_lu@yahoo.com

پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۸/۱

دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۷/۷/۲۱

دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۴/۱۲

مقدمه

بی شک توسل به گیاهان دارویی، کهن ترین رهیافت بشر برای درمان بیماری ها بوده است و در خلال توسعه تمام تمدن های بشری همواره ارتباطی تنگاتنگ بین آدمی و گیاه وجود داشته است. با این حال هنوز بیشتر گونه های گیاهی بررسی نشده و ناشناخته مانده اند و هنوز زمان زیادی مانده است تا منابع جدید و با ارزش گیاهی کشف شوند. بنابراین گیاهان را می توان به عنوان منبعی از مواد شیمیایی بالقوه مفید دانست که تنها بخشی از آن مورد بهره برداری قرار گرفته است. این مواد شیمیایی بالقوه مفید را می توان نه تنها به عنوان دارو بلکه به عنوان الگویی بی نظیر به عنوان نقطه شروعی برای ساخت آنالوگ های دارویی به کار برده و همچنین به عنوان ابزاری جالب به منظور فهم و درک بیشتر و بهتر پدیده های زیست شناختی به کمک گرفت (۱).

رادیکال های آزاد، واکنش گرهای بسیار قوی هستند که تمایل زیادی برای گرفتن الکترون وجفت کردن الکترون های خود دارند، لذا باعث می شوند تا دیگر مولکول ها آسیب ببینند یا عملکرد خود را از دست بدهند. خسارت های ناشی از واکنش های اکسیداتیو به DNA، پروتئین و سایر مولکول ها می تواند باعث پیشرفت و تشدید بیماری های قلبی عروقی، سرطان، پیری، کاتاراکت، خونریزی کبدی و ایدز گردد (۲،۳). همچنین رادیکال های آزاد در مکانیسم عمل برخی از آنزیم های هم دار سیتوکروم شرکت می کنند (۴). رادیکال های آزاد می توانند از منابع آگزوژن بر اثر استرس های اکسیداتیو تولید شوند (۵). از جمله حساس ترین هدف های پراکسیدانت ها می توان از اسیدهای چرب موجود در غشاهای بیولوژیک نام برد. اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع منجر به کاهش سیالیت غشاء و از بین رفتن ساختمان و عملکرد آن می شود که در پاتوژنز بسیاری از بیماری ها دخالت دارد. در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدها، اسیدهای چرب غیر اشباع تغییر

شکل می دهند و در نتیجه سیالیت و پتانسیل غشای لیپیدی کاهش می یابد که منجر به تغییر نفوذپذیری غشاهای سلولی می شود. از سوی دیگر پراکسیداسیون لیپیدها بر آنزیم های غشایی تاثیر گذاشته، در روند انتقال یون ها و نیز رهاسازی مواد داخل سلولی تغییراتی ایجاد می شود. همچنین متابولیت های سیتوتوکسیک حاصل از پراکسیدهای لیپیدی در اکسیداسیون پروتئین های موجود در LDL اهمیت به سزایی دارند (۶). این روند در پاتوژنز آرتروواسکلولوز اهمیت ویژه ای دارد. با توجه به عوارض سوء رادیکال های آزاد، استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان ضروری به نظر می رسد. آنتی اکسیدان ها قادرند در مقادیر کم، غشاهای سلولی و ترکیبات مختلف موجود زنده را در مقابل اکسیدان ها حفظ کنند (۷). نکته حائز اهمیت آن است که بین عوامل اکسید کننده و آنتی اکسیدان تعادل وجود داشته باشد تا شرایط بهینه فیزیولوژیکی در بدن حفظ گردد. تولید بیش از حد عوامل اکسید کننده (مخصوصاً در عفونت های مزمن باکتریایی، ویروسی و انگلی) می تواند باعث عدم تعادل یا اصطلاحاً تنش اکسایشی شود (۸).

جنس *Ziziphora* متعلق به تیره نعناع و دارای چهار گونه ی *Z. clinopodioides* Lam, *Z. capitata* L., *Z. persica* Bunge., و *Z. tenuior* L. در ایران بوده که در اغلب نواحی ایران دیده می شوند (۹). *Z. clinopodioides* Lam. در ایران با نام محلی کاکوتی کوهی شناخته می شود و دارای ۹ زیر گونه بومی در ایران است. در طب سنتی دم کرده گونه های مختلف آن را به عنوان مسکن، ضد نفخ و ضد دل درد بکار می برند. در ایران بخش های هوایی کاکوتی کوهی را به عنوان ادویه و همچنین برای درمان سرماخوردگی و سرفه مورد استفاده قرار می دهند (۱۰).

هدف از این پژوهش شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه *Z. clinopodioides* Lam. در مرحله قبل از گلدهی و مقایسه آن با مرحله گلدهی و همچنین بررسی ترکیبات این اسانس در استان لرستان بود که برای اولین بار انجام

می‌شود. در ضمن مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاه رشد یافته در استان لرستان و مقایسه نتایج آن با سایر بررسی‌های صورت گرفته در مناطق دیگر از اهداف دیگر این پژوهش به‌شمار می‌آید.

روش بررسی

روش استخراج اسانس

(الف) تهیه نمونه گیاهی و استخراج اسانس: گیاه *Z. clinopodioides* Lam در اردیبهشت ماه ۱۳۸۶ از گردنه رازان در ۵۵ کیلومتری شهرستان خرم‌آباد در مرحله قبل از گلدهی جمع‌آوری گردید و در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان با کد ۵۱۴۵ مورد شناسایی قرار گرفت. بخش‌های هوایی گیاه پس از خشک کردن در سایه جهت اسانس‌گیری با روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر به مدت ۲ ساعت مورد استفاده قرار گرفت. (ب) تهیه عصاره متانولی: ۱۰۰ گرم بخش هوایی گیاه در ۱ لیتر متانول خیسانده شد و به وسیله سوکسله در دمای زیر نقطه جوش به مدت ۷۲ ساعت مورد عصاره‌گیری قرار گرفت. عصاره حاصل به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد و سپس توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردید (۱۱).

(ج) تفکیک و شناسایی مواد متشکله اسانس: آنالیز GC با دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Shimadzu 15A صورت گرفت. از N_2 به عنوان گاز حامل با سرعت (یک میلی‌لیتر در دقیقه) و ستون DB-5 ($0.25 \text{ mm} \times 0.25 \text{ mm} \times 50 \text{ m}$) استفاده شد. دمای ستون در 60°C برای مدت ۳ دقیقه نگهداری و سپس با سرعت 5°C در دقیقه تا 220°C افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در 220°C ثابت گردید. درصد‌های نسبی با استفاده از نرم‌افزار کروماتوپیک C-R4A بدون استفاده از فاکتور تصحیح از سطح زیر منحنی برآورد شد.

آنالیزهای GC/MS با استفاده از دستگاه Hewlett-pakard 5973 مجهز به ستون HP-5MS ($0.25 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$) و ضخامت $0.25 \mu\text{m}$) صورت گرفت. دمای ستون برای ۳ دقیقه در دمای 60°C نگهداری و تا 220°C با سرعت 5°C در دقیقه افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در 220°C نگهداری شد. گاز هلیوم با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل 70 eV مورد استفاده قرار گرفت.

شناسایی مواد متشکله اسانس به وسیله مقایسه طیف جرمی و اندیس بازداریشان با آنچه که در منابع وجود دارد صورت گرفت (۱۲).

(د) اندازه‌گیری ترکیبات فنلی: اندازه‌گیری ترکیبات فنلی به وسیله روش‌هایی که از Folin-Ciocalteu به عنوان معرف و اسیدگالیک به عنوان استاندارد استفاده می‌نمایند صورت گرفت. 0.1 میلی‌لیتر محلول عصاره با 46 میلی‌لیتر آب مقطر و 1 میلی‌لیتر معرف Folin-Ciocalteu با هم مخلوط و کاملاً تکان داده شد. پس از ۳ دقیقه، 3 میلی‌لیتر محلول 2% کربنات سدیم اضافه و مخلوط حاصل طی 2 ساعت به‌طور متناوب تکان داده شد. جذب نمونه‌ها نیز در طول موج 760 نانومتر اندازه‌گیری شد. همین روش برای کلیه محلول‌های استاندارد اسید گالیک و تهیه منحنی استاندارد به کار برده شد (۱۱).

(ه) فعالیت آنتی‌اکسیدانی: بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی با دو روش زیر صورت گرفت:

(۱) روش DPPH: فعالیت اتم‌های هیدروژن و الکترون عصاره‌ها و بعضی از ترکیبات خالص از طریق بی‌رنگ شدن عصاره‌های متانولی ارغوانی رنگ DPPH اندازه‌گیری می‌شود. در این روش اسپکتروفوتومتری از رادیکال‌های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) به عنوان معرف استفاده می‌شود. 50 میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس مورد استفاده به 5 میلی‌لیتر محلول متانولی 0.04% DPPH اضافه می‌گردد. بعد از 30 دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج

۵۱۷ نانومتر خوانده می شود. بازدارندگی رادیکال های آزاد از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$I\% = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}}$$

که در این رابطه A_{blank} جذب واکنش کنترل (دارای تمام معرف ها به جز غلظت مشخص از اسانس مورد نظر) می باشد. مقادیر IC_{50} بیانگر غلظتی از اسانس است که باعث ۵۰٪ بازدارندگی فرآیندهای اکسیداتیو می گردد (۱۱).

۲) روش β - کاروتن-لینولئیک اسید: در این روش فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس ها به وسیله آزمایش بی رنگ شدن β - کاروتن صورت می گیرد. برای تهیه محلول استوک بتا کاروتن-لینولئیک اسید، ۰/۵ میلی گرم بتا کاروتن در ۱ میلی لیتر کلروفرم حل شد و ۲۵ میکرولیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی گرم توین ۴۰ اضافه گردید. با استفاده از دستگاه تبخیر در خلا کلروفرم به طور کامل تبخیر گردید. سپس ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن اضافه و ظرف حامل به شدت تکان داده شد. سپس ۲۵۰۰ میکرولیتر از مخلوط واکنشی به لوله های آزمایش اضافه و ۳۵۰ میکرولیتر از اسانس به دست آمده به لوله ها اضافه گردید و پس از ۴۸ ساعت جذب لوله ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه گیری شد. همین روش برای BHT به عنوان کنترل مثبت و شاهد که فاقد آنتی اکسیدان یا اسانس می باشد به کار برده شد. ظرفیت آنتی اکسیدانی اسانس با

شاهد و کنترل مثبت مقایسه گردید و به صورت درصد بیان شد (۱۱).

نتایج

نتایج این بررسی نشان داد که بازده اسانس حاصل از بخش های هوایی گیاه *Z. clinopodioides* در مرحله قبل از گلدهی با روش Hydrodistillation معادل ۱/۴w/w می باشد. مواد شناسایی شده در اسانس گیاه در مرحله قبل از گلدهی در جدول ۱ آورده شده است. همان طور که مشاهده می شود ترکیب در این اسانس شناسایی شده است که معادل ۹۸/۶٪ از مجموع ترکیبات را شامل می شود و شاخص ترین ترکیبات آن شامل پولگون (۳۰/۱٪)، تیمول (۲۱/۳٪)، پارامنتا-۳-ان-۸-ال (۱۲/۹٪)، پیرپیتون (۹/۳٪) و او-۸-سینئول (۴/۱٪) می باشند.

بررسی حاضر نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در عصاره متانولی گیاه معادل ۲۱ $\mu\text{g}/\text{mg}$ یا ۲۱٪ وزنی-وزنی می باشد. توانایی جمع آوری رادیکال های DPPH، اسانس، عصاره متانولی و BHT در جدول شماره ۲ آورده شده است. بررسی حاضر نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در عصاره متانولی گیاه معادل ۲۱ $\mu\text{g}/\text{mg}$ یا ۲۱٪ وزنی-وزنی می باشد. توانایی جمع آوری رادیکال های DPPH، اسانس، عصاره متانولی و BHT در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول ۱: مواد تشکیل دهنده اسانس گیاه *Ziziphora clinopodioides* در مرحله قبل از گلدهی

شماره	ترکیبات	RI	درصد	شماره	ترکیبات	RI	درصد
۱	α -thujene	۹۳۱	۰/۱	۱۳	isomenthone	۱۱۶۵	۱/۶
۲	α -pinene	۹۳۹	۰/۶	۱۴	Terpinene-4-ol	۱۱۷۷	۰/۲
۳	Camphene	۹۴۶	۰/۲	۱۵	α -terpineol	۱۱۸۹	۰/۸
۴	Sabinene	۹۷۰	۰/۳	۱۶	Pulegone	۱۲۳۸	۳۲/۱
۵	β -pinene	۹۸۰	۰/۶	۱۷	Bornyl acetate	۱۲۸۵	۴/۷
۶	α -phellenderene	۱۰۰۵	۰/۳	۱۸	Thymol	۱۲۹۰	۲۱/۳
۷	1,8-cineole	۱۰۳۳	۴/۱	۱۹	Piperitenone	۱۳۲۰	۹/۳
۸	p-mentha-3-en-8-ol	۱۱۴۰	۱۲/۹	۲۰	β -caryophyllene	۱۴۱۸	۰/۵
۹	γ -terpinene	۱۰۶۲	۰/۳	۲۱	Germacrene-D	۱۴۴۸	۱/۱
۱۰	P-Mentha-3,8-diene	۱۰۷۲	۳/۷	۲۲	β -bisabolene	۱۵۰۹	۰/۱
۱۱	Menthone	۱۱۵۲	۲/۴	۲۳	Caryophyllene oxide	۱۵۸۱	۰/۹
۱۲	Neomenthl	۱۱۶۰	۲/۵				

RI: Retention Indices

جدول ۲: نتایج بررسی اثرات آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی گیاه *Ziziphora clinopodioides* در مرحله قبل از گلدهی

نمونه	روش	DPPH ($\mu\text{g/ml}$) ^a	β -Carotene/linoleic acid (% inhibition rate) ^b
اسانس		۵۵/۳±۰/۸۵	۶۱/۶±۹۰
عصاره متانولی		۲۱/۴±۵۰	۸۹/۳±۱/۹
BHT		۱۸/۰±۰/۴۰	۹۶/۶±۱/۲۹

a: مقادیر IC₅₀ بر حسب $\mu\text{g/ml}$

b: درصد بازدارندگی لینولیک اسید

بحث

بررسی های چیت ساز و همکاران منجر به شناسایی ۲۲ ترکیب متفاوت در اسانس کاکوتی کوهی شده است که ۵ ترکیب بیش از ۷۳ درصد اسانس را تشکیل می دادند و به ترتیب، شامل پولگون (۲۹/۳٪)، پارامنتا-۳-ان-۸-اول (۱۹/۱٪)، نئو-منتول (۱۱/۶٪)، پیری تنون (۹/۴٪) و ۱ و ۸ سینتول (۴/۵٪) بودند (۱۳). بهروان و همکاران نیز ۲۷ ترکیب را در اسانس *Z. clinopodioides* شناسایی نمودند که عمده ترین این ترکیبات شامل پولگون (۴۴/۵٪)، تریپنتول (۱۴/۵٪)، متیل استات (۱۰/۹٪)، ایزونئو-منتول (۷/۱٪) و ۸-سینتول (۴/۱٪) می باشند (۱۴). در بررسی اسانس گیاه *Z. clinopodioides* که از اطراف شهر کرد جمع آوری شده است مشخص گردید که پولگون (۵۳/۲٪)، پارامنتا-۲-ان-۱-ال (۲۱/۴٪)، ۸-سینتول (۱۰/۳٪)، پارامنتا-۳-اول (۳/۷٪) و بتا-پینن (۱/۶٪) ترکیبات اصلی آن می باشند (۴). در تحقیقات صورت گرفته در روسیه و غرب ترکیه مشخص شده است که پولگون (۲۱/۹٪-۱۳/۲٪)، ایزومنتون (۱۰/۸٪-۲٪)، منتون (۵/۴٪-۴/۶٪)، لیمونن (۸/۱٪-۱/۸٪) و ۸-سینتول (۱۴/۵٪-۲/۳٪) ترکیبات شاخص گیاه *Z. clinopodioides* می باشند (۱۵، ۱۶). پولگون (۳۱/۸٪)، ۱ و ۸-سینتول (۱۲/۲٪)، لیمونن (۱۰/۵٪)، منتول (۹/۱٪)، بتاپینن (۶/۸٪)، منتون (۶/۷٪)، پیری تنون (۵/۳٪) و پیریتون (۴/۲٪) به عنوان ترکیبات اصلی اسانس *Z. clinopodioides* جمع آوری شده از شرق ترکیه گزارش شده اند (۱۷). همان طور که بررسی حاضر نشان می دهد

درصد تیمول در این بررسی نسبت به سایر بررسی های مشابه بیشتر است که احتمالاً به دلیل زمان جمع آوری گیاه (قبل از گلدهی) می باشد. بنابراین اگر در بهره برداری از اسانس این گیاه هدف تهیه تیمول باشد زمان قبل از گلدهی گیاه بهترین زمان برای جمع آوری می باشد. البته شرایط اقلیمی محل رویش گیاه نیز می تواند از موارد مهم در تغییر مواد مؤثره گیاه باشد ولی مقایسه ترکیبات اصلی تشکیل اسانس گیاه *Z. clinopodioides* Lam رشد یافته در مناطق غرب ایران تغییرات اندکی را نشان می دهد. مطالعات صورت گرفته نشان داده است که پولگون (۶۵/۲٪)، ایزومنتون (۱۱/۹٪)، ۱ و ۸-سینتول (۷/۸٪) و پیریتون (۶/۵٪) ترکیبات اصلی *Z. clinopodioides subsp. bungeana* می باشد (۱۸).

نتایج این تحقیق با یافته های مطالعات قبلی که بر روی سایر گونه های *Ziziphora* صورت گرفته است و نشان داده اند که اسانس آن ها دارای مقادیر قابل توجهی پولگون است مطابقت دارد. در مقایسه با سایر گونه های *Ziziphora* مقدار پولگون در اسانس *Z. clinopodioides* کمتر می باشد به طوری که مقدار این ترکیب در اسانس *Z. taurica subsp. cleonoides* ۸۱/۹٪ در *Z. persica* ۶۶٪ در *Z. vychodcevana* ۵۷/۵٪ و در *Z. tenuior* ۸۷/۱٪ می باشد (۲۱-۱۹).

پولگون به عنوان ترکیب شاخص اسانس گونه های *Ziziphora* یک مونوترپن اکسیژن دار حلقوی با چگالی ۰/۹۳ می باشد که دارای بوی مطبوعی بوده و در تعدادی از

گیاهان تیره، جزء اصلی تشکیل دهنده اسانس محسوب می شود. پولگون ترکیبی سمی بوده که باعث صدمات حاد کبدی می شود. این ماده همچنین می تواند موجب نکروز شدید کبدی، سقط جنین و کواگولاسیون داخل رگی منتشر گردد. پولگون دارای خاصیت ضد گیاهخواری است و در طبیعت گیاه را از آسیب های حشرات و گیاهخواران حفظ می نماید و در صنعت از آن در ساخت حشره کش ها، صابون های عطری و دئودورانت ها و همچنین به عنوان طعم دهنده در خمیر دندان ها استفاده می شود. این ترکیب دارای خاصیت بارز ضدباکتری و ضد قارچ بوده و به ویژه بر روی سوش های مختلف سالمونلا موثر است. پولگون ماده ای ضدالتهاب بوده که فعالیت آنتی هیستامینی آن بر روی خوکچه هندی بررسی شده و مشخص شده که آتاکونیست گیرنده های H_1 بوده و دارای اثرات مشابه دکس کلرفنیرآمین است (۴).

بررسی حاضر نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در عصاره متانولی گیاه معادل $21 \mu\text{g}/\text{mg}$ یا 21% وزنی- وزنی می باشد. توانایی جمع آوری رادیکال های DPPH، اسانس، عصاره متانولی و BHT در جدول شماره ۲ آورده شده است. در روش DPPH غلظتی از عصاره و اسانس که باعث 50% بازدارندگی فعالیت های اکسیداتیو شد (IC_{50}) به ترتیب $21/4$ و $55/3$ میکروگرم بر میلی لیتر بود در حالی که IC_{50} برای BHT 18 میکروگرم بر میلی لیتر بود. این نتایج نشان می دهند که اسانس و عصاره متانولی گیاه *Z. clinopodioides* به طور قابل توجهی میزان رادیکال های آزاد DPPH را کاهش می دهند. این بررسی همچنین نشان داد که کارایی عصاره متانولی در جمع آوری رادیکال های DPPH بیشتر از اسانس بوده اما فعالیت آنتی اکسیدانی آن از آنتی اکسیدان سنتزی BHT اندکی کمتر است. در روش $\beta\text{-carotene-linoleic acid}$ نیز میزان بازدارندگی عصاره متانولی و اسانس به ترتیب $89/3\%$ و $61/6\%$ بود در حالی که این مقدار در مورد BHT برابر با $96/6\%$ بود. بالا بودن

اثرات آنتی اکسیدانی عصاره های متانولی نشان می دهد که احتمالاً پلی فنل ها یا فلاون ها و فلاونوئیدها نقش مهمی در این فعالیت ها بازی می کنند (۲۲). بررسی صالحي و همکاران در مورد اثرات آنتی اکسیدانی عصاره های *Z. clinopodioides* نشان داده است که در سیستم DPPH، عصاره های متانولی این گیاه نسبت به عصاره های دیگر بیشترین اثرات را با IC_{50} برابر با $30/7$ میکروگرم بر میلی لیتر دارا است. در این مطالعه بیشتر بودن فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های متانولی را به بالا بودن میزان ترکیبات فنلی در این عصاره ها نسبت داده اند (۱۰). بررسی های دیگر اثرات آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره های متانولی *Z. clinopodioides* و بعضی از گونه های *Ziziphora* را نشان داده اند (۱۰، ۲۰). فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس *Z. clinopodioides* را می توان به وجود ترکیباتی مثل تیمول، ۱ و ۸- سینئول و بتا کاریوفیلین نسبت داد زیرا گزارشات متعددی در مورد اثرات آنتی اکسیدانی قابل توجه ترکیبات مذکور وجود دارد (۲۲).

نتیجه گیری

با توجه به اهمیت گیاه *Z. clinopodioides* Lam که از نظر دارویی و غذایی در ایران و به ویژه مناطق غربی مورد توجه قرار دارد، مطالعه ترکیبات مؤثره آن به ویژه اسانس آن که از نظر پولگون و تیمول غنی است می تواند حائز اهمیت باشد. این بررسی نشان داد که اگر هدف از بهره برداری از *Z. clinopodioides* Lam استحصال پولگون باشد، بهترین زمان برای جمع آوری گیاه زمان گلدهی آن است در حالی که اگر هدف به دست آوردن تیمول باشد بهترین زمان برای جمع آوری گیاه قبل از گلدهی است. همچنین این بررسی نشان می دهد که اسانس و عصاره های متانولی این گیاه منابع خوبی از مواد آنتی اکسیدانی هستند که می توانند در پزشکی و بیماری های وابسته به ترکیبات اکسیدان و همچنین صنایع غذایی مورد استفاده قرار گیرند.

Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanolic Extract of *Ziziphora Clinopodioides* Lam in Preflowering Stage

Amiri H., Ph.D.¹

1. Assistant Professor, Biology Department, Lorestan University, Khoramabad, Iran

* Corresponding author, e-mail: amiri_h_lu@yahoo.com

(Received 2 July 2008 Accepted 22 Oct. 2008)

Abstract

Background & Aims: *Ziziphora clinopodioides* Lam belongs to the Labiatae family and its dried aerial parts are used as flavors and also in the treatment of cold and cough.

Methods: The chemical composition of the essential oil obtained from aerial parts by hydro distillation method was analyzed by GC and GC/MS. The methanolic extract was also obtained from the aerial parts of the plant. Samples were subjected to a screening for their possible antioxidant activities by using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and β -carotene-linoleic acid.

Results: Twenty three constituents accounting to 96.6% of the total oil were identified. Major components of the oil were pulegon (30.1%), thymol (21.3%), p-mentha-3-en-8-ol (12.9%), piperitenone (9.3%) and 1, 8-cineol (4.1%), respectively. In the DPPH test system, the IC₅₀ value for antioxidant activity of methanolic extract was determined to be 28.4 μ g/ml, whereas it was 55.3 μ g/ml for the oil. In β -carotene-linoleic acid test system, antioxidant activities of the extract and oil were 89.3% and 61.6%, respectively.

Conclusion: In general, methanolic extract of *ziziphora clinopodioides* lam showed greater antioxidant activity than its essential oil.

Keywords: *Ziziphora clinopodioides*, Essential oil, Antioxidant activity, Methanolic Extract

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2009; 16(1): 79-86

References

1. Morteza Semnani K, Saeedi M, Mahdavi MR, Rahimi F. Study and comparison of the antimicrobial activity of methanolic extracts of several species of *Stachys* and *Phlomis*. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2007; 57: 57-66 [Persian].
2. Laster P, Midori H, Toshikazu Y. Antioxidant food supplements in human health. Sandiagio Adademic Press, 1999; pp371-2.
3. Leake DS, Rankin SM. The oxidative modification of low-density lipoproteins by macrophages. *Biochem J* 1990; 270(3): 471-8.
4. Sajadi SE, Ghasemi dehkordi N, Balochi M. Chemical composition of the essential oil of aerial parts of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Pajouhesh Va Sazandegi J* 2003; 16 (1): 97-100 [Persian].
5. Delattre J, Bonne font-Rousselot D. Oxidative stress, free radical and aging. *Biotech Lab Inter* 1998; 21-3.
6. Cross C, Halliwell B, Brish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, *et al*. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107(4): 526-45.
7. Cross AR, Jones OT. Enzymatic mechanisms of superoxide production. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1057(3): 281-98.

8. Leung FY. Trace elements that act as antioxidants in parenteral micronutrition. *Biochem* 1998; 9(6): 304-7.
9. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran, Farhang Moaser Publisher, 1996; p591 [Persian].
10. Salehi P, Sonboli A, Eftekhar F, Nejad-Ebrahimi S, Yousefzadi M. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (Boiss.) RECH. F. from Iran. *Biol Pharm Bull* 2005; 28(10): 1892-6.
11. Şahin F, Güllüce M, Daferera D, Sökmen A, Sökmen M, Polissiou M, *et al.* Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control* 2004; 15(7): 549-57.
12. Adams RP. Identification of essential oil components by Gas chromatography/mass spectroscopy. Illinois, Allured Publishing Corporation, 2001.
13. Chitsaz M, Pergar A, Naseri M, Kamalinajad M, Bazargan M, Mansouri S, Ansari F. Composition of the essential oil and antibacterial activity of alcoholic extract and oil of *Ziziphora clinopodioides*. LAM on selected bacteria. *Daneshvar J* 2007; 14 (68): 15-22 [Persian].
14. Behravan J, Ramezania M, Hassanzadeh MK, Eskandari M, Kasaian J and Sabeti Z. Composition, antimycotic and antibacterial activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. Essential oil from Iran. *J Essent Oil-Bearing plant* 2007; 10(4): 339-45.
15. Baser KHC, Sezik E, Tuemen G. Composition of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *J of Essent Oil Res* 1991; 3: 237-9.
16. Goryaev MI, Gratsianskaya LP and Lishtnanova N L. Essential oil components. XVII Investigation of *Ziziphora clinopodioides*. *Serial Khimika Nauk* 1964; 14, 75-9.
17. Ozturk S, Ercisli S. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. *Food Control* 2007; 18(5): 535-40.
18. Sonboli A, Mirjalili MH, Hadian J, Ebrahimi SN, Yousefzadi M. Antibacterial activity and composition of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *bungeana* (Juz.) Rech. f. from Iran. *Z. Naturforsch* 2006; 61(9-10): 677-80.
19. Dembitskii AD, Bergaliev ES, Kyazimov IM. Chemical composition of the essential oils of *Ziziphora* growing under various ecological conditions. *Chemistry of Natural Compounds* 1994; 30(6): 673-5.
20. Meral GE, Konyalioglu S, Ozturk B. Essential oil composition and antioxidant activity of endemic *Ziziphora taurica* subsp. *Cleonioides*. *Fitoterapia* 2002; 73(7-8): 716-8.
21. Ozturk S, Ercisli S. The chemical composition of essential oil and *in vitro* antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Ziziphora persica* Bunge. *J Ethnopharmacol* 2006; 106(3): 372-6.
22. Sokmen A, Gulluce M, Akpulat HA, Daferera D, Tepe B, Polissiou M, *et al.* The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control* 2004; 15(8): 627-34.